

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2001-097948

(43)Date of publication of application : 10.04.2001

(51)Int.Cl.

C07D209/14  
A61K 31/404  
A61P 7/00  
A61P 7/04  
A61P 43/00

(21)Application number : 11-279490

(71)Applicant : TORII YAKUHIN KK  
JCR PHARMACEUTICALS CO LTD

(22)Date of filing : 30.09.1999

(72)Inventor : MURAKAMI YASUOKI  
SUZUKI EIJI  
WATANABE YUKIHISA  
YOKOYAMA TETSUO

## (54) COMPOUND HAVING AFFINITY FOR THROMBOPOIETIN RECEPTOR

## (57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a thrombocytopenia medicine, a platelet production control agent or a platelet production promoter which has affinity for thrombopoietin receptors and can orally be administered.

SOLUTION: 3-Aminoacetyl-1-phenylsulfonylindole or its pharmacologically acceptable salt. The 3-aminoacetyl-1-phenylsulfonylindole or its pharmacologically acceptable salt is useful as an orally administrable thrombocytopenia medicine, platelet production control agent or platelet production promoter.

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

## (12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-97948

(P2001-97948A)

(43) 公開日 平成13年4月10日 (2001.4.10)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テマコード <sup>*</sup> (参考)
C 0 7 D 209/14		C 0 7 D 209/14	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/404		A 6 1 K 31/404	4 C 2 0 4
A 6 1 P 7/00		A 6 1 P 7/00	
7/04		7/04	
43/00	1 1 1	43/00	1 1 1
審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 6 頁)			

(21) 出願番号 特願平11-279490

(22) 出願日 平成11年9月30日 (1999.9.30)

(71) 出願人 591039263

烏居薬品株式会社

東京都中央区日本橋本町3丁目4番1号

(71) 出願人 000228545

日本ケミカルリサーチ株式会社

兵庫県芦屋市春日町3番19号

(72) 発明者 村上 泰興

千葉県船橋市西習志野2-36-12

(72) 発明者 鈴木 英治

茨城県取手市取手2-15-23-405

(74) 代理人 100066692

弁理士 浅村 皓 (外3名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 トロンボポエチン受容体に親和性を有する化合物

## (57) 【要約】

【課題】 トロンボポエチン受容体に親和性を有し、経口投与可能な血小板減少症治療剤、血小板産生調節剤あるいは血小板産生促進剤の提供。

【解決手段】 3-アミノアセチル-1-フェニルスルフォニルインドールまたはその薬理学的に許容しうる塩による上記課題の解決。

【効果】 3-アミノアセチル-1-フェニルスルフォニルインドールまたはその薬理学的に許容しうる塩は、経口投与可能な血小板減少症治療剤、血小板産生調節剤あるいは血小板産生促進剤として有用である。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 3-アミノアセチル-1-フェニルスルフォニルインドール又はその薬理学的に許容しうる塩。

【請求項2】 請求項1に記載の化合物からなる医薬組成物。

【請求項3】 血小板減少症治療剤、血小板産生調節剤若しくは血小板産生促進剤である請求項2に記載の医薬組成物。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、トロンボポエチン受容体に親和性を有し、血小板産生調節作用若しくは血小板産生促進作用を有する化合物に関するものである。

【0002】

【従来の技術】トロンボポエチン(TPO)はc-Mpl遺伝子がコードしている蛋白質(トロンボポエチン受容体)のリガンドであり、1994年にクローニングされた(de Sauvage, F.J. et al, Nature 369, 533-538(1994); Bartyley, T.D. et al, Cell 77, 1117-1124(1994))。TPOは、巨核球産生を刺激する中心的な液性因子であり、巨核球系前駆細胞から成熟巨核球に至る広範囲な巨核球産生に作用する。さらに、血小板産生における主要な生理的調節因子であることが知られており、血小板減少症の治療薬として期待され、開発が進められている。

【0003】トロンボポエチン受容体に親和性を有し、血小板産生を調節する因子としては、このTPOそのもののほか、低分子ペプチド(WO96/40189号、WO98/25965号、特開平10-72492号)、1,4-ベンゾジアゼピン誘導体(特開平11-1477号)等が知られてきている。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】TPOは、前臨床及び臨床試験において、血小板増加作用、ガン化学療法などによる骨髓抑制後の血小板回復促進作用が報告されている。しかし、最近の臨床試験において、TPOが投与された癌患者の一部に中和抗体が出現し、また、血小板採取を目的としてTPOを投与された健康人(血小板輸血ドナー)に血小板減少症が生じ(中和抗体陽性)、重症な場合には逆に血小板輸血が必要となること等が報告され、問題となっている。

【0005】また、TPOは332残基のアミノ酸から構成されている蛋白質であるため、消化管内で分解されてしまい、経口投与は困難であり、臨床試験においては注射剤として皮下に投与されている。従って、トロンボポエチン受容体に親和性を有し、経口投与可能な血小板減少症治療剤、血小板産生調節剤あるいは血小板産生促進剤の開発が望まれている。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記課題

を解決すべく鋭意研究を行った結果、3-アミノアセチル-1-フェニルスルフォニルインドール又はその薬理学的に許容しうる塩が、トロンボポエチン受容体に親和性を有することを見出し、本発明を完成した。

【0007】

【発明の実施の形態】本発明の3-アミノアセチル-1-フェニルスルフォニルインドールは、必要に応じて薬理学的に許容し得る塩に変換することも、あるいは生成した塩から遊離塩基に変換することもできる。薬理学的に許容し得る塩としては、塩酸塩、リン酸塩、硫酸塩等の無機酸塩、酢酸塩、クエン酸塩、メタンスルホン酸塩等の有機酸塩等が挙げられる。

【0008】本発明の3-アミノアセチル-1-フェニルスルフォニルインドール又はその薬理学的に許容し得る塩を有効成分とする医薬は、通常、哺乳類(ヒト患者を含む)に対し、錠剤、カプセル剤、散剤、細粒剤、シロップ剤等の経口投与剤、直腸投与剤、あるいは注射剤として投与することができる。また、本発明化合物は1個の治療剤として、あるいは他の治療剤との混合物として投与することができる。それらは単体で投与しても良いが、一般的には医薬組成物の形態で投与する。それらの製剤は薬理学的、製剤学的に許容し得る添加物を加え、常法により製造することができる。すなわち、経口剤には、通常の賦形剤、滑沢剤、結合剤、崩壊剤、湿潤剤、コーティング剤等の添加剤を用いることができる。経口用液剤は、水性または油性懸濁液、溶液、乳濁液、シロップ、エリキシル等の形態であっても良く、あるいは使用前水または他の適当な溶媒で調製するドライシロップとして供されても良い。前記の液剤は、懸濁化剤、香料、希釈剤あるいは乳化剤のような通常の添加剤を含むことができる。直腸内投与する場合は、坐剤として投与することができる。坐剤は、カカオ脂、ラウリン脂、マクロゴール、グリセロゼラチン、ウィテップゾール、ステアリン酸ナトリウムまたはそれらの混合物など、適当な物質を基剤とし、必要に応じて乳化剤、懸濁化剤、保存剤等を加えることができる。注射剤は、水性あるいは用時溶解型剤形を構成し得る注射用蒸留水、生理食塩水、5%ブドウ糖溶液、プロピレングリコール等の溶解剤ないし溶解補助剤、pH調節剤、等張化剤、安定化剤等の製剤成分が使用される。

【0009】本発明化合物をヒトに投与する場合の投与量は、患者の年齢、状態等により異なるが、通常成人の場合、経口剤あるいは直腸内投与剤で1mg~1000mg/人/日程度、注射剤で0.1~500mg/人/日程度である。しかし、これらの数値はあくまでも例示であり、投与量は患者の症状等種々の条件によって適宜増減される。

【0010】

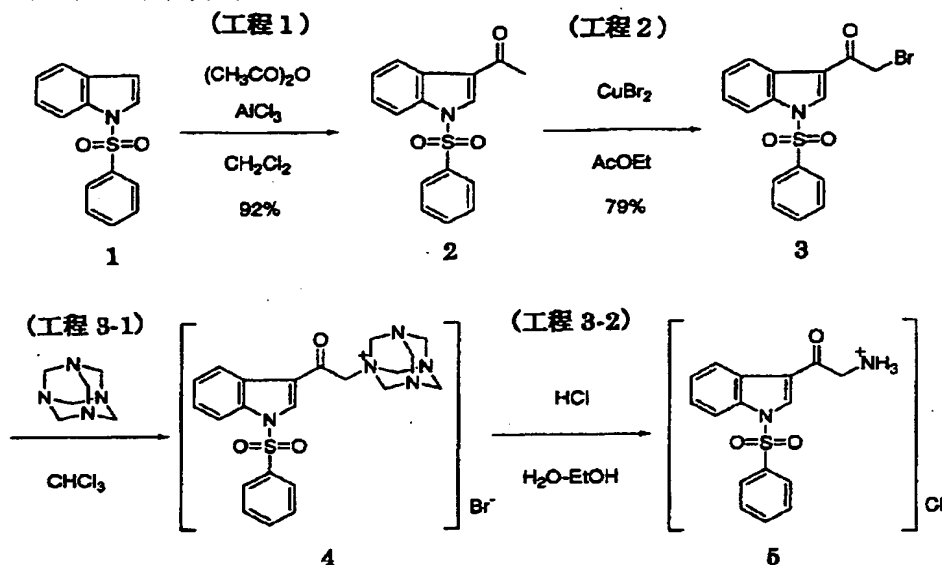
【実施例】次に実施例および試験例を挙げて本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらの例によって限定さ

れるものではない。

【0011】本発明の3-アミノアセチル-1-フェニルスルフォニルインドールは、次の方法で合成すること\*

\*ができる。スキーム1

【化1】



#### 【0012】実施例1

3-アセチル-1-フェニルスルフォニルインドール (2) の製造 (工程1)

アルゴン気流中、氷冷下で、粉碎した無水塩化アルミニウム (67.2 g, 504 mmol) にジクロロメタン (250 ml) を加え、次いで無水酢酸 (23.7 ml, 252 mmol) を滴下した。無水塩化アルミニウムを完全に溶解した後、1-フェニルスルフォニルインドール (1) (21.6 g, 84.0 mmol) のジクロロメタン (75 ml) 溶液を滴下し、その後10分間攪拌した。反応後、反応液を氷水中に注加してジクロロメタンで抽出し、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄後、飽和食塩水で洗浄した。さらに無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧下溶媒留去して淡青色結晶 24.1g を得た。得られた結晶をメタノールから再結晶を行い、3-アセチル-1-フェニルスルフォニルインドール (2) (23.2 g, 収率92%) を無色板状晶 (融点164-164.5 °C) として得た。

【0013】IR  $\nu_{max}$   $cm^{-1}$  (Nujol) : 1663 (C=O)。

$^1H$ -NMR (in  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm) : 2.54 (3H, s,  $COCH_3$ ), 7.10 - 8.40 (9H, aromatic-H), 8.15 (1H, s, indole C<sup>2</sup>-H)。

#### 【0014】実施例2

3-ブロモアセチル-1-フェニルスルフォニルインドール (3) の製造 (工程2)

アルゴン気流中、室温で臭化銅 (18.90 g, 84.6 mmol) に酢酸エチル (300 ml) を加え、次いで3-アセチル-1-フェニルスルフォニルインドール (2) (12.60g, 42.1mmol) の酢酸エチル (380 ml) 溶液を滴下し、50分間加熱還流しながら攪拌した。放冷後、無機物の沈殿を吸引ろ過によりろ取した。ろ取物を酢酸エチルで充分に洗浄後、ろ液と洗液を合し飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、

次いで飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去して淡黄色結晶 15.38 g を得た。得られた結晶をベンゼン-ヘキサンから再結晶を行い、3-ブロモアセチル-1-フェニルスルフォニルインドール (3) (12.61 g, 79%) を無色板状晶として得た。さらに一部についてベンゼン-ヘキサンから再結晶を繰り返し無色板状晶 (融点 130.5-131°C) を得た。

【0015】元素分析  $C_{16}H_{12}BrNO_2S$

理論値 : C, 50.81; H, 3.20; N, 3.70。

実験値 : C, 50.69; H, 3.16; N, 3.75。

IR  $\nu_{max}$   $cm^{-1}$  (Nujol) : 1678 (C=O)。

$^1H$ -NMR (in  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm) : 4.32 (2H, s,  $COCH_2Br$ ), 7.10 - 8.41 (9H, aromatic-H), 8.28 (1H, s, indole C<sup>2</sup>-H)。

MS (EI) m/z : 379 ( $M^+ + 2$ , 14%), 377 ( $M^+$ , 13%), 77 (B P)。

#### 【0016】実施例3

3-アミノアセチル-1-フェニルスルフォニルインドール・塩酸塩 (5) の製造 (工程3-1)

3-ブロモアセチル-1-フェニルスルフォニルインドール (3) (4.94g, 13.1mmol) のクロロホルム (20 ml) 溶液をヘキサメチレンテトラミン (2.01g, 14.3mmol) のクロロホルム (40 ml) 溶液へ加え、室温で1時間攪拌した。反応後析出した結晶を吸引ろ過し、中間体 (4) の粗結晶 5.81g (粗収率 86%) を得た。

【0017】(工程3-2) 得られた中間体 (4) (5.81g, 11.2mmol) の水 (71ml) 及びエタノール (35ml) の混合溶媒溶液へ濃塩酸 (9.1ml) を室温で加えた後、65°C で1時間攪拌し、減圧留去して乾固した。次いで、不純物の塩化アンモニウム及び臭化物イオンを除くため次の操作を

行った。残留物の淡黄色固形物をエーテルに懸濁し、分液ロート中で5%水酸化ナトリウム水溶液を加え攪拌し、水層がアルカリ性になっていることを確認後エーテル層を分取し、さらにエーテル層を飽和食塩水で洗浄後無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、乾燥剤をろ別した。得られたエーテル層に乾燥塩化水素ガスを吹き込み、析出した結晶を吸引ろ取した。これをエタノール-エーテルから再沈殿して、3-アミノアセチル-L-フェニルスルフォニルインドール・塩酸塩(5)(3.35 g)を淡赤色結晶(融点 215-218°C)として得た。

【0018】元素分析  $C_{16}H_{14}ClN_2O_3S$

理論値: C, 54.78; H, 4.31; N, 7.99.

実験値: C, 54.37; H, 4.69; N, 7.51.

IR  $\nu_{max} cm^{-1}$  (Nujol): 3365 ( $N-H$ ), 1680 ( $C=O$ ).

$^1H-NMR$  (in  $DMSO-d_6$ )  $\delta$  (ppm): 3.30-3.58 (3H, br,  $COCH_2NH_3^+$ ), 4.58 (2H, brs,  $COCH_2NH_3^+$ ), 7.10-8.35 (9H, m, aromatic-H), 9.00 (1H, s, indole  $C^2-H$ ).

MS (EI) m/z: 314 ( $M^+$ , 14%), 284 (BP).

【0019】試験例1 トロンボポエチン依存性細胞株BaF/mp1の樹立

(1) pCR3-Uni/mp1の調製

c-mpl (トロンボポエチン受容体遺伝子) のcDNAはRT-PCR法により増幅して得た。即ち、ヒト胎児肝細胞由来polyA+mRNA (human fetal liver polyA+ mRNA, CLONTECH社製) を鋳型として1st-strand cDNA Synthesis Kit (CLONTECH社製) を用い、添付のプロトコールに従ってcDNAを合成した。

【0020】Gene Bank M90102、EMBL X73551に登録されているデータを用いて、PCRのセンスプライマー5'-CGAGAGATGCCCTCTGG-3'およびアンチセンスプライマー5'-TCAAGGCTGCTCCCAATACC-3'を常法に従い合成した。PCR産物を発現ベクターであるEukaryotic TA Cloning Kit (Invitrogen社製) 添付のpCR3-Uniに正方向に組込むために、センスプライマーのみあらかじめKination Kit (TOYOBO社製) を用いて5'末端をリン酸化した。PCR反応はEx Taq (Ex Taq DNAポリメラーゼ, TAKARA社製) を用いて添付のプロトコールに従い、通常の条件で行った。PCR産物を電気泳動にかけ、エチジウムブロマイド溶液(ニッポンジーン社製)で染色後、Gene Clean II (BIO 101社製)を用いてアガロースゲルからc-mplのcDNAを抽出した。単離したcDNAを、添付のリガーゼバッファーを用いて通常の条件でプラスミドpCR3-Uniに組込んだ。ライゲーション産物は、大腸菌TOP10F'株にハナハン(hanahan)法を用いて導入した。得られた形質転換体は制限酵素解析、配列分析によりインサートを確認し、常法に従い大量調製した。調製したプラスミドをpCR3-Uni/mp1と命名した。

【0021】(2) 形質転換に用いる細胞の準備

Ba/F3細胞(理化学研究所細胞開発銀行)はネズミインターロイキン-3(murine Interleukin-3) (m-IL3) 依

存的に増殖する細胞であり、同細胞を維持していくためにはm-IL3が必要である。そこでm-IL3を分泌するWEHI-3細胞(理化学研究所細胞開発銀行)を10%ウシ胎児血清(JRH BIOSCIENCES社製)、4mM L-グルタミン(GIBCO BRL社製)及び50  $\mu$ g/mLゲンタマイシン(SIGMA社製)を含むRPMI1640培地(日水製薬社製)にて培養し、培養上清を分取した。培養上清はポアサイズ0.22  $\mu$ mの膜(0.22  $\mu$ m dispersabl filterware: Nalgene社製)にて濾過後、冷蔵保存した。Ba/F3細胞はRPMI1640培地に10%用量のWEHI-3培養上清を添加して培養した。

【0022】(3) DEAE-デキストラン法によるBa/F3細胞の形質転換

対数増殖期にあるBa/F3細胞を  $5 \times 10^4$  cells/mLの密度で播種し、CO<sub>2</sub> インキュベーターにて一晚培養した。pCR3-Uni/mp1をPBS(日水製薬社製)で10  $\mu$ g/mL濃度に希釈した。2mg/mL濃度で生理食塩水に溶解したDEAE-デキストラン溶液(SIGMA) 85  $\mu$ LにPBSを同量加えて希釈し、これに先のプラスミド溶液を170  $\mu$ L加えて混合した。

【0023】一晚培養したBa/F3細胞をPBSにて2回洗浄した後、細胞数を計数し、 $2 \times 10^5$  cellsの細胞を分取した。遠心分離で上清を除去後、プラスミド/DEAE-デキストラン混合液を細胞に加え緩やかに攪拌した。15分間室温で処理した後、細胞をPBSにて2回洗浄し、Ba/F3細胞用の培地にて48時間CO<sub>2</sub> インキュベーター内で培養した。

【0024】(4) 形質転換細胞のG418及びTPOによる選抜

Ba/F3の形質転換細胞は400  $\mu$ g/mL濃度のG418(ジェネティシン, GIBCO BRL社製)を含むBa/F3細胞用培地にて4週間培養することによって選別した。この間培地は4日間ごとに交換した。

【0025】G418耐性細胞はさらにm-IL3供給源であるWEHI-3細胞培養上清の代わりに10ng/mL濃度のh-TPO(ヒト-TPO, genzyme社製)を含む培地で1週間培養することによってTPO依存的に増殖可能な細胞を選別した。この間培地は2日間ごとに交換した。最終的に得られたTPO依存的に増殖可能な細胞をBaF/mp1細胞と命名した。

【0026】試験例2 BaF/mp1細胞の代謝活性への影響測定試験

細胞膜に発現している受容体にリガンドが結合すると、細胞内シグナル伝達の結果としてその細胞の代謝活性が上昇し、細胞外に水素イオンを放出する。この水素イオンの放出を細胞外水素イオン濃度の変化率として検出するサイトセンサー(Cytosensor Microphysiometer, NMD社製)を用いて、本発明化合物添加時のBaF/mp1細胞の代謝活性を測定した。

【0027】(1) セルカップの調製

BaF/mp1細胞を10ng/mL ヒトTPO(PEPRO TECH社製)存在下、10%FBSを含むRPMI1640培地(Nihon Molecular Devices, NMD社製)で予め培養した。同様にBa/F3細胞

も、10ng/mLネズミ インターロイキン-3 (m-IL3) (PEPRO TECH社製) 存在下、10% FBSを含むRPMI 1640培地で予め培養した。対数増殖期のBaF/mp1細胞またはBa/F3細胞は10% FBSを含むRPMI培地で一晚インキュベートし、すべての細胞を静止期に同調させた。翌日、BaF/mp1細胞またはBa/F3細胞を $1.3 \times 10^5$  cells/mLの濃度になるように培地に懸濁した。細胞懸濁液60μLとアガロース20μLを混合しサイトセンサーの各セルカップ (NMD社製) の中央に8μLずつ播種した。セルカップの外側を1mLの培地で満たし、アガロースが固まるまでプレートを氷上に静置した。スパーサー (NMD社製) をセルカップの底部に配置後、カプセルインサート (NMD社製) を各カップに入れ、上から培地を1mLずつ加えてセルカップに沈めた。

#### 【0028】(2) 測定培地の準備

サイトセンサー用RPMI培地 (NMD社製) を組織培養用蒸留水 (コスモバイオ社製) 1Lに溶解し、pH7.4に調整後、0.45μmのフィルターで吸引ろ過した。

#### 【0029】(3) サイトセンサーによる測定

TPO及び3-アミノアセチル-1-フェニルスルフォニルインドール・塩酸塩 (本発明化合物) をそれぞれ20ng/mL、100μMの濃度になるようサイトセンサー用RPMI培地に溶解し、測定用試料とした。その際、本発明化合物のDMSO溶液を使用し、DMSOの終濃度が1%となるように培地に溶解した。代謝速度が一定した条件下試料をサイトセンサーにセットした。サイトセンサー測定は、測定培地の送液から試料の送液に戻したあとに、細胞の代謝速度の変化を測定した。試料による刺激は10分間行い、その後本来の刺激以前の代謝速度に戻るまで測定培地を送液した。なお、1%DMSOが細胞の代謝速度に影響しないことは、同様に試験を行いあらかじめ確認した。

【0030】その結果、BaF/mp1細胞にTPOを0.8ng/mL～20ng/mLまで添加すると4ng/mL以上で用量依存的に代謝活性の上昇が認められた。同様に本発明化合物をBaF/mp1細胞に4μM～100μMまで添加すると、20μM以上で用量依存的な代謝活性の上昇が認められ、本発明化合物はTPO受容体に親和性を有することが明らかとなった。一方、m-IL3依存性細胞であるBa/F3細胞に対して本発明化合物を4μM～100μMまで添加したところ、BaF/mp1細胞で見られたような代謝活性の上昇は認められなかった。

#### 【0031】試験例3 BaF/mp1細胞増殖を指標としたトロンボポエチン様活性測定試験

BaF/mp1細胞をヒト TPO (h-TPO) (PEPRO TECH社製) 存在下、10% FBS (牛胎児血清、三光社製) を含むRPMI1640 (Gibco社製) 培地で培養した。同様にBa/F3細胞を増殖因子ネズミ インターロイキン-3 (m-IL3) (PEPRO TECH社製) 存在下で培養した。対数増殖期のBaF/mp1細胞またはBa/F3細胞を遠心機で沈殿させて回収し、増殖因子非存在下で10%FBSを含むRPMI1640培地で懸濁し、4～6時間培養した。

【0032】培養後、BaF/mp1細胞またはBa/F3細胞を、増殖因子非存在下で10%FBSを含むRPMI1640培地に $5 \times 10^5$  cells/mLの濃度に懸濁し、50μL/well ( $2.5 \times 10^5$  cells/50μL) ずつ培養用マイクロプレートに分注した。そして、DMSO (同仁社製) で10mMの濃度に調製した3-アミノアセチル-1-フェニルスルフォニルインドール・塩酸塩 (本発明化合物) を0.1% BSA (Sigma社製) /RPMI1640培地で使用濃度に希釈し (最終濃度: 10μM～0.1μM / 1%DMSO)、50μL/wellずつ添加して一晚培養した。同時にBaF/mp1細胞に増殖因子h-TPOを添加したウェル、Ba/F3細胞に増殖因子m-IL3を添加したウェル、コントロールとして最終濃度1%DMSOを添加したウェルを作製し、同様に培養した。

【0033】培養後、細胞生存率測定キットCell Titer 96 Aqueous Kit (Promega社製) を使用して、細胞生存率を測定した。キットの添付文書に従って、BaF/mp1細胞及びBa/F3細胞にA液 (MTS 溶液 10mLとPMS 溶液 0.5mLの混合液) を20μL/wellずつ添加した後、37℃で2～3時間培養した。培養後、吸光度 (波長490nm) を測定し、以下の計算式により細胞の生存率を求めた。

[ODa] = BaF/mp1細胞に対する20ng/mL h-TPO添加時の吸光度

[ODb] = Ba/F3細胞に対する2ng/mL m-IL3添加時 (これ以上の濃度にしても吸光度は変わらない) の吸光度

[ODc] = BaF/mp1細胞またはBa/F3細胞に対する1%DMSO添加時の吸光度

[ODサンプル] = BaF/mp1細胞またはBa/F3細胞にリガンド (最終濃度で1%DMSOを含む) を添加したときの吸光度

BaF/mp1細胞を用いたときの細胞生存率 (%) =  $100 \times$

$([ODサンプル] - [ODc]) / ([ODa] - [ODc])$

Ba/F3細胞を用いたときの細胞生存率 (%) =  $100 \times ([ODサンプル] - [ODc]) / ([ODb] - [ODc])$

【0034】その結果、BaF/mp1細胞に対して、本発明化合物100μMを添加した場合は76%の細胞生存率を示した。一方、Ba/F3細胞に対して、本発明化合物100μMを添加した場合は3%の細胞生存率を示した。BaF/mp1細胞に対し20ng/mL h-TPOを添加した時の細胞生存率を100%とした結果を図1に示す。

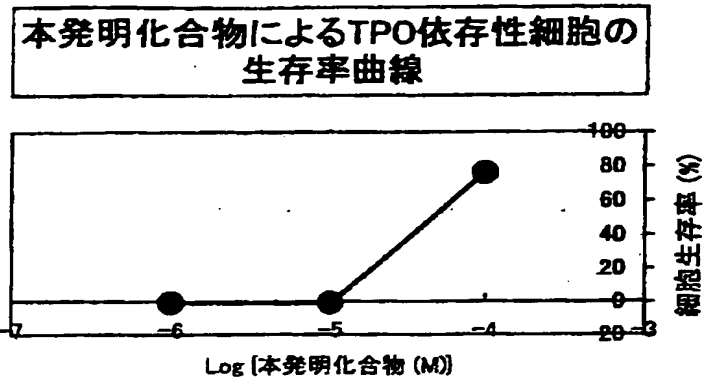
#### 【0035】

【発明の効果】本発明の3-アミノアセチル-1-フェニルスルフォニルインドール又はその薬理学的に許容し得る塩は、トロンボポエチン受容体に親和性を有するため、経口投与可能な血小板減少症治療剤、血小板産生調節剤あるいは血小板産生促進剤として有用である。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】横軸は化合物のLog (濃度 (M))、縦軸はBaF/mp1細胞に対し20ng/mL TPOを添加した時の細胞生存率を100%としたときの、本発明化合物添加時の細胞生存率を表わす。

【図1】



フロントページの続き

(72)発明者 渡辺 幸久  
千葉県千葉市緑区大野台1-2-1 鳥居  
薬品株式会社研究所内

(72)発明者 横山 哲雄  
兵庫県神戸市垂水区桃山台1-16 JCR  
COURT 314号  
Fターム(参考) 4C086 AA01 AA02 AA03 BC13 MA04  
NA14 ZA54 ZC41  
4C204 BB01 CB03 DB16 EB02 FB32  
GB01